

PARTICLE COATED WITH FERRITE AND ITS MANUFACTURE

Patent number: JP6231957
Publication date: 1994-08-19
Inventor: SASAKI MOTOHIRO; ISOMURA MITSUO;
MATSUKAWA MASAHICO; ASHIHARA YOSHIHIRO;
YOSHIOKA KATSUAKI; OKADA MASAHISA; ANAMI
MAKOTO
Applicant: NIPPON PAINT CO LTD
Classification:
- International: H01F10/20; C01G49/00; G01N33/553; H01F1/00;
H01F41/24
- european: H01F1/33
Application number: JP19930238957 19930831
Priority number(s): JP19930238957 19930831; JP19920253455 19920831

Report a data error here

Abstract of JP6231957

PURPOSE: To increase the coverage of ferrite particles on core particles by specifying the particle-size ratio between the core particles and ferrite particles. **CONSTITUTION:** Ferrite particles having particle sizes of 4-50nm which are very smaller than that of core particle, that is, 1/8 to 1/80 of the particle sizes of core particles are used. The core particles are scattered in water or an aqueous solution which is adjusted to 6-11 in pH and the aqueous solution of ferrous ions and aqueous solution of an oxidizing agent are added to the water or aqueous solution so that the relation between the pH and oxidation-reduction potential can be maintained within ranges of A(6, -440 mV), B(6, -130 mV), C(11, 430mV), and D(11, -740mV). In addition, the ratio of feeding speeds between the aqueous solutions of the oxidizing agent and ferrous ions is set at 1×10^{-3} to 15×10^{-3} . As a result, particles coated with the ferrite particles are obtained.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-231957

(43)公開日 平成6年(1994)8月19日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
H 0 1 F 10/20				
C 0 1 G 49/00	Z			
G 0 1 N 33/553		9015-2J		
H 0 1 F 1/00	T			
41/24				

審査請求 未請求 請求項の数11 FD (全 16 頁)

(21)出願番号	特願平5-238957	(71)出願人	000230054 日本ペイント株式会社 大阪府大阪市北区大淀北2丁目1番2号
(22)出願日	平成5年(1993)8月31日	(72)発明者	佐々木 基寛 東京都品川区南品川4丁目1番15号 日本 ペイント株式会社東京事業所内
(31)優先権主張番号	特願平4-253455	(72)発明者	磯村 光男 東京都新宿区西新宿2丁目7番1号 富士 レビオ株式会社内
(32)優先日	平4(1992)8月31日	(72)発明者	松川 真彦 東京都品川区南品川4丁目1番15号 日本 ペイント株式会社東京事業所内
(33)優先権主張国	日本(JP)	(74)代理人	弁理士 津国 肇 (外1名) 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 フェライト被覆粒子及びその製法

(57)【要約】

【目的】 核粒子へのフェライト粒子の被覆率を高くすることにより、適応性の高い磁性材料を提供する。

【構成】 水又は水溶液に核粒子を分散させ、このものに第1鉄イオン水溶液、酸化剤水溶液及びpH調整剤を、pH-酸化還元電位の関係が特定の範囲内になるように添加し、酸化剤水溶液と第1鉄イオン水溶液の供給速度比率を0.1～15×10⁻¹で行うフェライト被覆粒子の製造法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 核粒子をフェライト粒子で被覆したフェライト被覆粒子であって、フェライト粒子の粒径が4～50nmであり、核粒子とフェライト粒子の粒径比が8/1～80/1であることを特徴とするフェライト被覆粒子。

【請求項2】 核粒子を水又は水溶液に分散させ、この液のpHを6～11に設定し、第一鉄イオン水溶液及び酸化剤水溶液を、pH-酸化還元電位図におけるpHと酸化還元電位の関係がA(6, -440mv)、B(6, -130mv)、C(11, -430mv)及びD(11, -740mv)の範囲内に維持されるように添加し、かつ酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を0.1～15×10⁻¹で行う、請求項1のフェライト被覆粒子の製造法。

【請求項3】 フェライト粒子が、式X^{II}O・Fe₂O₃(式中、XはFe、Mn、Ni、Zn、Co、Cu、Mg、Sn、Ca及びCdから選ばれる1種又は2種以上である)で示されるマグネタイト又は混晶フェライトで構成され、飽和磁化量が1～60emu/gであり、核粒子が、樹脂、セラミックス、ガラス、粘土鉱物又はケイ酸ゲルの粒径30～800nmの粒子である；請求項2のフェライト被覆粒子の製造法。

【請求項4】 第一鉄イオン水溶液が、第一鉄の塩酸塩、硫酸塩又は酢酸塩の水溶液であり；酸化剤水溶液が、亜硝酸塩、硝酸塩、過酸化水素、有機過酸化物又は過塩素酸の水溶液であり；pHが7.0～10に調整される；請求項2のフェライト被覆粒子の製造法。

【請求項5】 反応を60～90℃で行い、pHと酸化還元電位の関係図の特定範囲内の定点に制御し、供給速度比率を5～10×10⁻¹で行う、請求項2のフェライト被覆粒子の製造法。

【請求項6】 有機高分子の表面をX^{II}O・Fe₂O₃(式中、XはMn、Ni、Zn、Co、Cu、Mg、Sn、Ca及びCdから選ばれる一種以上)で示される混晶フェライト粒子によって被覆した、粒径が0.03～10μmのフェライト被覆粒子に抗原又は抗体が結合された免疫測定用粒子。

【請求項7】 フェライト被覆粒子の飽和磁化量が1～60emu/gである請求項6記載の免疫測定用粒子。

【請求項8】 フェライト被覆粒子をさらに高分子化合物により被覆し、該高分子化合物層に抗原又は抗体が結合された請求項6又は7記載の免疫測定用粒子。

【請求項9】 高分子化合物層がシラン、ナイロン又はポリスチレンである請求項8記載の免疫測定用粒子。

【請求項10】 請求項6ないし9のいずれか1項の免疫測定用粒子を用いる免疫測定法。

【請求項11】 免疫測定法が酵素免疫測定法である請求項10記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、生体中での移動を制御できる超音波診断用造影剤等の臨床検査；フェライト粒子に薬剤を結合させて患者の疾患部に移動させるドラッグ・デリバリー・システム；あるいは記録材料（マグネットグラフィー）、磁性表示材料；その他生体物質の分離精製や抗原抗体反応などに利用されるフェライト粒子で被覆された磁性粒子に関する。また、本発明は、免疫測定用粒子及びそれを用いる免疫測定法に関する。

【0002】

【従来の技術】核粒子の表面にフェライト粒子を結合させた磁性粒子の製造法として、特開昭63-65085号公報には、フェライトメッキの原理を応用した方法が開示されているが、この方法ではフェライト粒子が成長しすぎて粒径が核粒子と同程度か1/4程度のものではあったので、被覆率を高めるには約300nm以上の粒径の核粒子を用いなければならなかった。そこで、本発明者等は先に、特開平3-237019号公報において、分散した核粒子に第一鉄イオン水溶液、酸化剤水溶液及びpH調整剤を添加し、pH-酸化還元電位におけるpHと酸化還元電位の関係を特定な範囲内に維持することにより、フェライト微粒子で被覆された磁性粒子を得た。しかしながら、このものでもフェライト粒子の粒径は60～80nm（図3参照）であり、被覆が不均一であるため浮遊性、分散性が悪く、また核粒子表面の一部が露出しているため、例えば抗原抗体反応では非特異的吸着が起こるなどの欠点があった。

【0003】一方、免疫測定法、特に酵素免疫測定法においては、固相に大きな径を有するビーズを用いる代わりに粒径の小さいラテックス粒子等を用いることが高感度の免疫反応を行うことができる点で有利である。しかし、粒径の小さい粒子を用いた場合は、B/F分離を行うに当たって、遠心分離機を用いるか、あるいはフィルターによるろ過を行わねばならず、簡便な方法とはいえない。

【0004】そこで効率良く且つ簡便にB/F分離を行う方法として、粒径の小さい磁性粒子を採用する方法が提案された。この方法としては、例えばマグネタイトを核としてシランを被覆した粒径が1.0～10.0μmの粒子を用いる免疫測定法（特開昭55-141670号及び同50-122997号）及び磁性金属酸化物を核としてシランを被覆した粒径が0.1～1.5μmの粒子を用いる免疫測定法（特開昭60-1546号）が知られている。また、有機物を核としてシランを被覆した粒径が0.2～3μmの粒子を用いる免疫測定法（特開平3-115862号）が知られている。

【0005】これら従来の粒子は一度磁気応答させると残留磁気の影響により、凝集が生じ、1時間以上の長時間の分散、浮遊性が悪くなる等の欠点があり、免疫反応を2回行う場合、第2反応時の分散、浮遊性が悪くな

り、測定結果がばらついたりシグナルが低くなる等の欠点があった。

【0006】さらに、有機物を核とする粒子は免疫反応時の浮遊性を確保するため、直径 $3\mu\text{m}$ 以下であり、かつ、磁気分離効率を上げるため、直径 $0.2\mu\text{m}$ 以上のものを用いているが、免疫反応時に粒子の沈殿が認められ、免疫測定に用いる粒子として最適なものではなかった。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】上記のような欠点を改善し、核粒子表面でのフェライト粒子の被覆を完全にするには、フェライト粒子径をさらに小さく形成させることが必要であり、その方法について研究し、本発明に到達した。

【0008】また、本発明の目的は、免疫反応時に粒子の沈殿が生じず、1度磁気応答させた後でも長時間凝集せず、2回目以降の免疫測定も感度良く精密に行うことができる免疫測定用粒子及びこれを用いた免疫測定方法を提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明では、核粒子に結合するフェライト粒子の粒径は、第一鉄イオン濃度と酸化速度及び核粒子表面でのフェライト粒子の核の形成速度により、またフェライト粒子の核の形成速度は、第一鉄イオンの吸着速度と酸化速度で決定されることに着目し、いかに早くフェライト粒子の核を水中で形成させ、これを核粒子と衝突させることにより、つまり酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を一定範囲に調節することにより、フェライト粒子で均一に被覆されることを見い出した。

【0010】即ち、本発明によれば、核粒子を水又は水溶液に分散させ、この液のpHを $6\sim 11$ に設定し、第一鉄イオン水溶液及び酸化剤水溶液をpH-酸化還元電位図（図4参照）におけるpHと酸化還元電位の関係がA（ $6, -440\text{mv}$ ）、B（ $6, -130\text{mv}$ ）、C（ $11, -430\text{mv}$ ）及びD（ $11, -740\text{mv}$ ）の範囲内に維持されるように添加し、かつ酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を $0.1\sim 15\times 10^{-1}$ で行うことにより、フェライト粒子の粒径が $4\sim 50\text{nm}$ であり、核粒子とフェライト粒子の粒径比が $8/1\sim 80/1$ であるフェライト粒子で被覆されたフェライト被覆粒子が得られる。

【0011】また、本願発明者らは、上記従来の免疫測定用粒子の問題点を解決するため鋭意努力した結果、核が有機高分子であり、表層に特定金属を特定の組成比率とする混晶フェライトの層を形成した平均粒径が $0.03\sim 10\mu\text{m}$ の混晶フェライト被覆粒子を用いることにより免疫応答時における浮遊性を低下させることなく、磁気分離時における磁気応答性が高く、かつ免疫反応後の洗浄操作後も分散浮遊性の高い免疫測定用粒子が得ら

れることを見出し本発明を完成するに至った。

【0012】すなわち本発明はまた、有機高分子の表面を $\text{X}^{1+}\text{O}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$ （式中、XはMn、Ni、Zn、Co、Cu、Mg、Sn、Ca及びCdから選ばれる一種以上）で示される混晶フェライトによって被覆した、粒径が $0.03\sim 10\mu\text{m}$ の被覆粒子に抗原又は抗体が結合された免疫測定用粒子及びこれを用いる免疫測定法を提供する。

【0013】以下、本発明を詳細に説明する。まず、本発明のフェライト被覆粒子及びその製法について説明する。

【0014】第一鉄イオン、必要に応じてその他の金属イオンとしては、第一鉄の塩酸塩、硫酸塩、酢酸塩等が用いられる。第一鉄イオン水溶液は、第一鉄イオンと共に他の遷移金属イオンを含んでいてもよい。第一鉄イオンのみを含む場合は、スピネルフェライト、すなわちマグネタイト（ Fe_3O_4 ）粒子が形成され、他の金属イオン、例えばMn、Ni、Zn、Co、Cu、Mg、Sn、Ca又はCdを含む場合には、これら金属の酸化物の1種又は2種以上を含む $\text{X}^{1+}\text{O}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$ （式中Xは、上記他の金属を表す）で示される混晶フェライト粒子が形成される。フェライト粒子の粒径は $4\sim 50\text{nm}$ であり、核粒子とフェライト粒子の粒径比は $8/1\sim 80/1$ であり、核粒子よりも大巾に小さいフェライト粒子で均一に被覆されたものとなる。なお、他の金属酸化物と Fe_2O_3 の比率は上記の式に該当する場合だけでなく $\text{M}_x\text{Fe}_{(3-x)}\text{O}_4$ （ここに $0<X<3$ ）であってもよい。

【0015】酸化剤としては、亜硝酸塩、硝酸塩、過酸化水素、有機過酸化物、過塩素酸等が用いられる、好ましくは亜硝酸塩又は過酸化水素が用いられる。

【0016】また、pHの調整には、pH緩衝剤、水酸化ナトリウム又はアンモニア水が用いられ、反応液をpH $6\sim 11$ 、好ましくは $6.5\sim 10$ に調整される。pHの安定化のため、酢酸ナトリウムのような有機酸塩の緩衝剤を添加することは好ましい。

【0017】核粒子としては、樹脂、セラミックス、ガラス、粘土鉱物又はケイ酸ゲルの粒径 $30\sim 800\text{nm}$ の粒子が用いられ、特に従来この目的のために用いられている核粒子よりも小さい $30\sim 300\text{nm}$ のものも用いることができる。形状は球形でも変形したものでも適宜用いられる。核粒子はそのまま用いてもよいが、例えばブラズマ処理、アルカリ処理、酸処理又は物理的な処理を行ってもよい。これらの処理を行った場合は水溶液に対するぬれ性が改善され、フェライト粒子によるより均一な被覆ができる。なお、樹脂を核粒子とする場合の組成はスチレン、（メタ）アクリル酸エステル類から選ばれた1種以上のモノマーを重合して得られるポリマーである。

【0018】核粒子をフェライト粒子で被覆する反応

は、核粒子を分散させた水又は水溶液中で行われる。水溶液にはpH調整剤を添加し、pHを6~11に設定する。水溶液は好ましくは脱酸素水溶液が用いられる。この際必要により界面活性剤を添加して、核粒子の水への馴染みを向上させてもよいが、界面活性剤の添加は必須ではない。

【0019】この後、第一鉄イオン水溶液及び酸化剤水溶液を上記分散液に添加するが、この添加工程中、分散液のpHと酸化還元電位は図4におけるA、B、C及びDの点で囲まれた範囲内に制御して維持する。この際酸化速度が大きいほど、フェライト粒子の核は多く形成されるが、第一鉄イオン濃度がコントロールされているのでフェライト粒子の粒径は小さく均一な粒径となる。そのため、酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を0.1~1.5×10⁻²で行い、酸化速度を早くし、Fe₂O₃が早く過飽和の状態になるようにする。

【0020】反応は水溶液の沸点以下の温度で行うことができるが、好ましくは60~90℃の範囲で行われる。また、反応は好ましくは脱酸素下で行われる。酸素が多量に存在する条件下では不必要な酸化反応が進行するので、例えば窒素雰囲気下で反応させることが好ましい。また第一鉄イオン水溶液及び酸化剤水溶液からも酸素を除き、脱酸素水溶液とする。

【0021】得られたフェライト微粒子で被覆された粒子は、濾過することにより分離し、目的物を得る。目的に応じて分離後、乾燥してもよい。

【0022】次に、本発明の免疫測定用粒子及びそれを用いる免疫測定法について説明する。

【0023】上記本発明の免疫測定用粒子は、核粒子に有機高分子を用い、それに酸化鉄系の混晶フェライト粒子で被覆し、得られるフェライト被覆粒子に抗原又は抗体を結合することにより製造することができる。

【0024】上記ポリアクリル酸エステル類を構成するモノマーとしては、例えばアクリル酸2-ヒドロキシエチル、アクリル酸2-ヒドロキシプロピル、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸、アクリル酸エチル、アクリル酸n-ブチル、アクリル酸i-ブチル、アクリル酸2-エチルヘキシル、アクリル酸アミド、アクリル酸グリシジル及びアクリル酸メチルグリシジルなどを使用することができるがこれらに限定されるものではない。

【0025】上記ポリメタクリル酸エステル類を構成するモノマーとしては、例えばメタクリル酸2-ヒドロキシエチル、メタクリル酸2-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸1-メチル-2-ヒドロキシエチル、モノメタクリル酸グリセロール、メタクリル酸2-スルホエチル、メタクリル酸アシッドホスホキシエチル、メタクリル酸3-クロロ-2-アシッドホスホキシプロピル、メタクリル酸アシッドホスホキシプロピル、メタクリル酸エチル、メタクリル酸n-ブチル、メタクリル酸i-ブ

チル、メタクリル酸2-エチルヘキシル、メタクリル酸ラウリル、メタクリル酸シクロヘキシル、メタクリル酸アミド及びメタクリル酸グリシジル、メタクリル酸メチルグリシジルなどを使用することができるがこれらに限定されるものではない。

【0026】これらのモノマーを用いて重合させる方法としては、乳化重合、多段乳化重合を採用することができる。乳化重合法としては、重合配合物の全部を一時に仕込んで重合する方法、モノマーの一部とモノマー以外の配合物で先行重合を行い、それに残りのモノマーを連続的に添加しながら重合させるモノマー添加法及び重合配合物を予め乳化しておき、その一部を先行重合させてから残りのエマルジョンを連続的に添加して重合を進めるエマルジョン添加法が知られている。また、新しいラテックス粒子を生成させることなく種ラテックス粒子を段階的に成長させる多段乳化重合法が知られている。これらの重合方法は、モノマーの性質、重合熱除去の難易さ、ラテックスの平均粒子系及び粒子系分布などを考慮して選択することができる。その他のモノマーとして(メタ)アクリル酸等の酸モノマーが用いられる。更に架橋剤としてエチレングリコールメタクリレート、ネオペンチルグリコールジメタクリレート等の2官能モノマーを用いることもできる。

【0027】これらの重合反応に際してはラジカル開始剤として、過酸化ベンゾイル、過酸化ラウロイル、クメンハイドロパーオキシド、ジ-tert-ブチルパーオキシド、アセチルパーオキシド等の有機過酸化化合物系開始剤、 α 、 α' -アゾビスイソブチロニトリル等のニトリル系開始剤等が用いられる。

【0028】また、熱分解を利用した過硫酸カリウム、過硫酸アンチモン、過酸化水素等、さらにレドックス系重合触媒を採用してもよい。乳化重合に当たって使用することができる乳化剤としてはイオン性活性剤であるアニオン活性剤、カチオン活性剤及び両性活性剤並びにノンイオン活性剤である。

【0029】次に、前記方法により得られた有機高分子の核粒子に対して混晶フェライト粒子で被覆し混晶フェライト被覆粒子を形成するものである。

【0030】混晶フェライトによる被覆は、有機高分子の粒子が混合された水溶液中において実施される。水溶液中にはフェライト膜の形成に必須である第1鉄イオン及びマンガン、ニッケル、亜鉛、コバルト、銅、マグネシウム、スズ、カルシウム又はカドミウムの金属イオン(以下、「混晶金属イオン」と言うこともある)を供給する。第1鉄イオンは第1鉄の塩酸塩、硫酸塩、酢酸塩等の塩の形で水溶液中に供給される。混晶金属イオンがマンガンの場合にはマンガンフェライト(Mn_xFe_{1-x}O₃)、ニッケルの場合にはニッケルフェライト(Ni_xFe_{1-x}O₃)などが得られ、混晶金属イオンが複数種の場合にも混晶フェライト粒子が得られる。こ

これらの混晶金属イオンもそれぞれ水溶性の塩の形で水溶液中に供給される。

【0031】有機高分子の核粒子を混入した脱酸素した分散液に第1鉄イオン及び混晶金属イオン水溶液並びに酸化剤水溶液を添加することによりフェライト被覆の形成が始まる。酸化剤の例としては亜硝酸塩、硝酸塩、過酸化水素、有機過酸化物、過塩素酸又は溶存酸素水等が挙げられる。

【0032】水溶液のpHは水溶液中に存在するアニオン、金属イオンの種類において適宜選択され、制御されるが、好ましくは6～11、より好ましくは7～11の範囲とされる。pHの安定化のために、例えば酢酸アンモニウム等の緩衝液又は緩衝効果のある塩を加えてもよい。

【0033】フェライト被膜の形成反応を実行させるための温度条件は水溶液の沸点以下の範囲であればよいが、好ましくは60℃～90℃の範囲で行われる。また、反応は本質的に脱酸素雰囲気下で行われる。酸素が多量に存在する条件下では、不必要な酸化反応が進行するので好ましくない。具体的には窒素雰囲気下で反応を行うのが好ましい。また、同様に水溶液中からも酸素を除き、脱酸素水溶液とすることが好ましい。

【0034】本発明の免疫測定用粒子の製造にあたって、脱酸素水に有機高分子の核粒子を懸濁する際、必要により界面活性剤等の添加剤を添加して粒子の水への馴染みを向上してもよい。

【0035】上記方法において、上記本発明の粒子の製造方法について述べた条件（請求項2記載の条件）を採用すれば、混晶フェライト粒子の粒径は4～50nmであり、核粒子である有機高分子粒子と混晶フェライト粒子の粒径比は8/1～80/1であり、核の粒子よりも大幅に小さい混晶フェライト粒子で均一に被覆されたものとなる。

【0036】本発明で用いられる免疫測定用粒子は、上記のようにして得られた混晶フェライト被覆粒子に物理的に抗原又は抗体を吸着させることにより、あるいはさらに上記混晶フェライト被覆粒子を高分子化合物処理してその表面を該高分子化合物で被覆し、これに抗原又は抗体を結合させて得ることができる。高分子化合物としては、例えば、シラン、ナイロン又はポリスチレンを使用することができる。例えば、シラン処理の方法としては、酸性水性シラン化法が用いられる。まず、混晶フェライト被覆粒子と、シラン単量体を酸性溶液中で混合し、次いで、室温～95℃で加熱することにより達成される。この際、溶液中の被覆粒子の濃度及びシラン単量体の濃度は、それぞれ1～15及び10～60程度が好ましい。用いるシラン単量体としては、例えばp-アミノフェニルトリメトキシシラン、3-アミノプロピルトリメトキシシラン、N-2-アミノエチル-3-アミノプロピルトリメトキシシラン、トリアミノ官能性シラン

($H_2NCH_2CH_2-NHCH_2CH_2-NHCH_2CH_2CH_2-Si-(OCH_3)_3$)、n-ドデシルトリエトキシシラン、及びn-ヘキシルトリメトキシシラン等のオルガノシランを用いることができる。さらに、シランの末端アミノ基をカルボン酸に添加するために、シラン化処理粒子に酸無水物を常温で反応させることができる。

【0037】また、ナイロンによる被覆は例えば次のように行うことができる。1%の炭酸ナトリウム水溶液に混晶フェライト被覆粒子を懸濁させ、ヘキサメチレンジアミンを溶解せしめる。この溶液に界面活性剤、例えば5倍容量の8%ツィーン80（商品名）を含むヘキサクロホルム混合液（3：1）を混合し、次いで超音波処理してエマルジョンを形成させる。これにヘキサメチレンジアミンと当量のセバコイルジクロリドを含む上記と同様のヘキサクロホルム混合液を滴下することにより目的の粒子を得ることができる。

【0038】また、ポリスチレンにおいても、当業者に容易な方法を採用し、処理することができる。さらに、ナイロン、ポリスチレンの高分子樹脂溶液をスプレー塗り又は浸漬塗り等の方法により混晶フェライト被覆粒子を高分子化合物で直接被覆することができる。

【0039】本発明の免疫測定用粒子は、前記の方法により得られた混晶フェライト被覆粒子、または更にそれを高分子化合物処理した粒子に抗原又は抗体を結合させ得られる粒子である。使用する抗体としては薬剤例えばテオフィリン、フェニトイン、バルプロ酸；低分子ホルモンとして、例えばサイロキシン、エストロゲン、エストラジオール；癌マーカーとして、例えばCEA、AFP；ウイルス抗原として、例えばHIV、ATLA、HBV；高分子ホルモンとして、例えばTSH、インスリン；サイトカインとして、例えばIL-1、IL-2、IL-6；各種グロースファクター、例えばEGF、PDGF；更に前記ウイルスの適当なDNA、RNAなどに対する抗体である。また、使用する抗原としては、ウイルス、例えばHIV、ATLA、HBV；前記のウイルスのDNA；高分子ホルモン、例えばインスリン、TSHなどである。

【0040】抗原又は抗体を被覆粒子に結合する方法としては、物理吸着法又は化学結合法を採用することができる。物理吸着法は、適当な緩衝液中で前記粒子と抗原あるいは抗体とを反応させることにより行うものである。この反応に使用する緩衝溶液としては、リン酸緩衝液、トリス-塩酸緩衝液、炭酸緩衝液などである。反応は、両者を室温にて混合することにより容易に進行し、目的物を得ることができる。又、化学結合法は、所謂ペプチド結合法におけるカルボジイミド法を採用することができる。例えば反応を行うに当たって0.1～5%のシラン化処理粒子の分散液に対して等量の水溶性カルボジイミドを酸性下（pH4～6）に加え、室温で10分～1時間反応させ、上清を除去した後、0.01～10.

0 mg/mlの好ましくは0.1~5 mg/mlの抗体又は抗原溶液を加えることにより結合させることができる。このとき、用いる緩衝液はリン酸緩衝液などを用いることが望ましい。又、その他の化学結合法としては、グルタルアルデヒドや塩化シアヌルなどの、2価性架橋試薬の存在下に行う方法も採用することができる（「ペプチド合成法」丸善株式会社出版（昭和50年発行）、及び「酵素免疫測定法」共立出版株式会社出版、「蛋白質核酸酵素」別冊第31号（1987年）参照）。

【0041】以上の如くして製造された免疫測定用粒子は、一定粒径を保っていた。この粒子は適当な蛋白溶液、例えばBSA、グロブリンなどの溶液中で1年間保存しても変化は認められなかった。

【0042】尚、本発明におけるフェライト被覆粒子は、30 nm以上10 μ m以下の直径を有する。粒子径は10 μ mを超えると、免疫反応に用いた際、浮遊時間が短く、充分な反応を行うことができず好ましくない。又、粒子径が30 nm未満になると、免疫反応後の磁気分離効率が悪く好ましくない。

【0043】本発明における免疫測定法としては、放射免疫測定法、酵素免疫測定法を採用することができる。これらの測定法は、標識を用いる免疫測定法であって、サンドイッチ法あるいは競合法により、目的とする抗原あるいは抗体を測定することができる。

【0044】本発明における酵素免疫測定法は、例えば免疫測定用粒子と酵素標識抗体と検体とを、1分~3時間反応させ行うものである。実施の際の反応温度は4℃~40℃であり、好ましくは25℃~38℃である。未反応酵素標識抗体を洗浄後、固相に結合した抗体結合酵素の量を酵素基質を加え活性を測定することにより検体のリガンドの量を定量することができる。

【0045】本方法において用いることのできる酵素は、パーオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼなどである。

【0046】この際基質は、用いる酵素に適したものをを用いることはいうまでもなく、例えば、ABTS、ルミノール-H₂O₂（パーオキシダーゼ用）、p-ニトロフェニルホスフェート、メチルウンベリフェリルホスフェート、3-（2'-ヒドロトリシクロ[3.3.1.1^{3,7}]デカン）-4-メトキシ-4-（3"-ホスフォリルオキシ）フェニル-1,2-ジオキセタンニナトリウム塩（AMPPD）（アルカリホスファターゼ用）、p-ニトロフェニル- β -o-ガラクトース、メチルウンベリフェリル- β -o-ガラクトース、3-（2'-スビロアダマンタン）-4-（3- β -D-ガラクトピラノシル）フェニル-1,2-ジオキセタン（AMGPD）（ β -ガラクトシダーゼ用）などを使用することができる。

【0047】測定は、室温~40℃で1分~18時間反応させ、生じた発色、蛍光あるいは、発光量を測定することにより行うものである。他に測定は、4℃~40℃の範囲で加温しながら行う所謂レート法を採用することもできる。

【0048】又、免疫測定法の放射免疫測定法は上記酵素標識のかわりに¹²⁵Iなどの放射同位元素を標識し、行うものである。放射能を測定する以外は、操作は前記酵素免疫測定法の場合と全く同じである。

10 【0049】又、抗原あるいは抗体の放射標識は、既に市販されているボルトンハンター試薬により容易に調製する事ができる。例えば、0.1 M炭酸水素ナトリウム水溶液に溶かした抗原あるいは抗体溶液にこのボルトンハンター試薬を加え1~2時間後に、G-25の脱塩カラム等を用いて未反応のボルトンハンター試薬を除去することにより調製することができる。

【0050】この他、クロラミンT法やヨードジン法などを採用することにより容易に¹²⁵Iの放射標識を行うことができる。免疫反応を行うにあたっては本発明の免疫測定用粒子に試料を加え、4℃~40℃好ましくは20℃~38℃で1分~18時間反応させるものである。この後、生理食塩水あるいは蒸留水で洗浄を行い、放射標識抗体を免疫測定用粒子に加え、4℃~40℃好ましくは20℃~38℃で1分~18時間反応させ、生理食塩水あるいは蒸留水で洗浄を行い、その放射能活性を計測するものである。測定にはシンチレーションカウンターを使用するものである。

【0051】又、本発明の測定法は、イソルミノールやアクリジンエステルなどをラベルした化学発光測定法、フルオッセンやロードダミンをラベルした蛍光免疫測定法で行うこともできる。この際、ラベル体の標識は活性化エステル法やイソシアネート法を採用することにより容易に行うことができる（「酵素免疫測定法」（医学書院、1987年）参照）。

【0052】同様に、抗体の測定は、本発明の免疫測定用粒子を用い、試料とその粒子を混合して4℃~40℃、1分~18時間反応させた後、生理食塩水あるいは蒸留水で洗浄し、更に標識抗ヒトイムノグロブリン抗体を加え、4℃~40℃で、1分~18時間反応させ、洗浄し、標識物の活性を測定することにより行われる。

【0053】

【発明の効果】本発明のフェライト被覆粒子及びその製法は次のような効果を有する。

（1）本発明の方法によれば、従来法のものより、微粒子のフェライト粒子で核粒子の表面が均一に被覆されているため、比表面積を大きくすることができ、分散性及び浮遊性が向上する。

（2）フェライト粒子により被覆率がよく、均一に被覆されているため、抗原抗体反応に用いても精度が向上する。

(3) 核粒子をより小さくすることができるので、小粒径のマイクロカプセルとしてドラッグ・デリバリー・システムへの応用が有利になる。

(4) 比重のコントロール及び／又は磁化量のコントロールが可能である。

(5) フェライトの回収効率が向上する。

【0054】また、本発明の免疫測定用粒子によれば、免疫反応時に粒子の沈殿が生じず、1度磁気応答させた後も長時間凝集せず、2回目以降の免疫測定も感度良く精密に行うことができる。

【0055】

【実施例】以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

【0056】実施例1

反応容器にイオン交換水0.9Lを仕込み、粒径が300nmのポリスチレン粒子（日本ペイント（株）製ニッペマイクロジェルE-3101）10gを予めイオン交換水に分散させたもの100gを前記反応容器に投入した。この分散液を0.1N NaOHでpH8.0に調整し、70℃に加熱保持した。このものに、予めFeCl₂・4H₂Oをイオン交換水に溶解して調製した40wt%第一鉄イオン水溶液を、60ml/分の供給速度で供給し、同時にイオン交換水に溶解した15wt%亜硝酸ナトリウム水溶液を、0.3ml/分の供給速度で供給した。この間pHを8.0で一定に維持した。またこの溶液の酸化還元電位を-550mVで一定に維持するように亜硝酸ナトリウム水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を5×10⁻³に調節した。得られたフェライト被覆粒子を濾過により分離、水洗を繰り返し行い、フェライト被覆ポリスチレン粒子を得た。このものの顕微鏡写真（2*

表1

	実 施 例			比 較 例	
	3	4	5	2	3
酸化剤／第一鉄イオン 供給速度比率（×10 ⁻³ ）	0.1	5	15	0.05	20
フェライト粒子 粒 径 (nm)	10-5	40-20	50-30	—	80-70
被覆率	優	優	優	制 御 できず	可

【0062】実施例6～9

核粒子として、ポリスチレン（ST）、メチルメタクリレート（MMA）及びn-ブチルアクリレート（nBA）の所定の粒径の粒子を用い、反応時のpH及び酸化還元電位を表1に示す条件で行った以外は、実施例1と同

*5,000倍）の概略図を図1に示す。フェライト粒子の粒径は20-10nmであり、被覆率は、核粒子上の被覆粒子数をカウントし、次の基準で評価し、優であった。

【0057】

悪：<10、可：≤50、良：≤99、優：≥100

【0058】実施例2

実施例1における第一鉄イオン水溶液の代りに、予めFeCl₂・4H₂O26.1gとMnCl₂・4H₂O13.0gをイオン交換水60.9gに溶解した40%wt%水溶液を用い、酸化剤水溶液として20wt%過酸化水素水溶液を用いた以外は、実施例1と同様に行って、Mnフェライト被覆ポリスチレン粒子を得た。このものの顕微鏡写真の概略図は図2に示す。Mnフェライト粒子の粒径は20-10nmであり、被覆率は優であった。

【0059】比較例1

実施例1における亜硝酸ナトリウム水溶液の供給速度を1ml/分で行った以外は、実施例1と同様に行って、フェライト被覆ポリスチレン微粒子を得た。このものの顕微鏡写真の概略図は図3に示す。マグネタイト粒子の粒径は80-70nmであり、被覆率は可であった。

【0060】実施例3～5及び比較例2、3

実施例1における酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を表1のとおり行った以外は、実施例1と同様に行って、フェライト被覆ポリスチレン粒子を得た。このもののフェライト粒子径及び被覆率を表1に示す。

【0061】

【表1】

様に行って、フェライト被覆粒子を得た。

【0063】このもののフェライト粒子径及び被覆率を表2に示す。

【0064】

【表2】

表2

	実 施 例			
	6	7	8	9
核粒子				
材料	*1 ST	*2 MMA	*3 ST	*4 nBA
粒径 (nm)	100	800	300	60
反応条件				
pH	6.5	7.0	9.0	10.0
酸化還元電位 (mv)	-200	-450	-600	-300
フェライト粒子				
粒径 (nm)	15-10	50-30	40-20	10-5
被覆率	優	優	優	優
*1 ニッペマイクロジェル E-1001 (日本ペイント (株) 製)				
*2 ニッペマイクロジェル E-1101 ()			
*3 ニッペマイクロジェル E-3101 ()			
*4 ニッペマイクロジェル E-5003 ()			

【0065】実施例10～15

核粒子として、表3に示す溶融ソーダ法で得られたガラス粒子、イオン交換法で得られたケイ酸ゲル粒子及び合成スメクタイトである粘土鉱物粒子の所定の粒径のものを、形成されるフェライト粒子がマグネタイト又は*

* Mnフェライトである以外は、実施例1と同様に行って、フェライト被覆粒子を得た、このもののフェライト粒子径及び被覆率を表3に示す。

【0066】

【表3】

表3

	実 施 例					
	10	11	12	13	14	15
核粒子						
材料	ガラス	ガラス	ケイ酸ゲル	ケイ酸ゲル	粘土鉱物	粘土鉱物
粒径 (nm)	800	800	500	500	300	300
フェライト粒子						
材料	マグネタイト	Mn-フェライト	マグネタイト	Mn-フェライト	マグネタイト	Mn-フェライト
粒径 (nm)	50-30	50-30	40-20	40-20	40-20	40-20
被覆率	良	良	優	優	優	優

【0067】実施例16 混晶フェライト被覆粒子の作製

(1) 有機高分子粒子の作製

攪拌機、温度計、モノマー滴下ロート、還流冷却器、加熱装置、窒素ガス導入管を有する重合反応容器にイオン交換水230部を仕込み、80℃でスチレンとアクリル酸2-エチルヘキシル及びエチレングリコールジメタクリレート80/10/10の混合モノマー(A)1部と10%の過硫酸アンモニウム水溶液10部を加え、その後上記混合モノマー(A)99部を3時間で滴下してラテックスを得た。粒子を電子顕微鏡観察したところ、ほぼ単分散で、粒径は0.3μmであった。

【0068】(2) 混晶フェライトによる被覆

反応容器にイオン交換水0.9Lを仕込み、粒径が300nmの(1)で得た有機高分子粒子(日本ペイント(株)製ニッペマイクロジェルE-3101)10gを予めイ

オン交換水に分散させたもの100gを前記反応容器に投入した。この分散液を0.1N NaOHでpH8.0に調整し、70℃に加熱保持した。このものに、予めFeCl₂・4H₂O 26.1gとMnCl₂・4H₂O 13.0gをイオン交換水60.9gに溶解して調製した4.0wt%鉄/マンガンイオン水溶液を、60ml/分の供給速度で供給し、同時にイオン交換水に溶解した2.0wt%亜硝酸ナトリウム水溶液を、0.3ml/分の供給速度で供給した。この間pHを8.0で一定に維持した。またこの溶液の酸化還元電位を-550mVで一定に維持するように亜硝酸ナトリウム水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を5×10⁻¹に調節した。得られたマンガンフェライト被覆粒子を濾過により分離、水洗を繰り返して、マンガンフェライト被覆ポリスチレン粒子を得た。更に、サンプルの一部を凍結乾燥し、理研電子(株)の振動試料型磁力計MODEL BHV-3.5 SERIESにより

10 kエルステッドでの飽和磁化量と残留磁化量を測定したところ、それぞれ31.5 emu/g、1.3 emu/gの測定値を得た。この飽和磁化量に対する残留磁化量の比は4.1%であった。

【0069】実施例17 粒子浮遊性の検討

公知の粒子（特開平3-115862号公報）と実施例16で作製した粒子をそれぞれ0.015%濃度で2% BSA溶液（0.1Mトリス-塩酸、150mM NaCl溶液（pH7.2））に分散させ、1mlをチューブに取り、表面磁場が3000ガウスの磁石に接触させ1昼夜放置したものと、表面磁場がないところで1昼夜放置したものを作った。これらの粒子を2%BSA溶液で1回洗浄後、これを同じ2%BSA溶液に分散させ、分光光度計（日立製作所）セルに入れ、室温で放置した。0~120分後に上清の吸光度を波長660nmで測定した。その相対濁度を図5に示す。

【0070】実施例18 粒子の磁気分離速度の比較
実施例17で用いた粒子溶液（2%BSA溶液）1000μlをチューブに取り、表面磁場が3000ガウスの磁石に接触させた。接触後0~2分後に上清を分離し、分光光度計（日立製作所製）セルに入れ、660nmの波長における吸光度を測定した。その相対濁度を図6に示す。

【0071】実施例19

カルボキシ化混晶フェライト被覆粒子の調製

カルボキシ化混晶フェライト粒子は、予め超音波洗浄機（バット型、日本精機製作所製）を用いて蒸留水で60秒ずつ5回洗浄した実施例16の混晶フェライト被覆粒子（核の平均粒径300nmのポリスチレン/メタクリレート共重合体）5gに3-アミノプロピルトリエタキシラン50mlを加え、更に氷酢酸30mlを添加し、室温下3時間反応し、洗浄後、無水グルタル酸を反応させることにより得られた。氷酢酸は氷冷下攪拌しながら滴下し、洗浄は蒸留水、メタノール、蒸留水で各々3回ずつ洗浄し、更に0.1M炭酸水素ナトリウム溶液で300mlずつ5回洗浄した。無水グルタル酸との反応は、粒子の5wt%（0.1M炭酸水素ナトリウム溶液）100mlに無水グルタル酸2.85gを加え、10分間反応させた。反応終了後、0.1M炭酸水素ナトリウム溶液で300mlずつ3回洗浄し、更に蒸留水で5回洗浄し、これをカルボキシ化免疫測定用粒子とした。

【0072】実施例20

抗AFP IgG結合混晶フェライト被覆粒子の調製
20mMリン酸緩衝液（pH4.5）5mlに実施例19で調製したカルボキシ化混晶フェライト被覆粒子50mgを分散させ、これに水溶性カルボジイミド50mgを加えた。室温で20分間反応させた後、上清を除去し、抗AFPマウスIgG抗体溶液（1mg/ml、0.02Mリン酸緩衝液、pH4.5）5mlを加え、エ

ンドオーバーエンドミキサーで攪拌した。2時間後、この粒子を2%BSA溶液で5回洗浄し、これを同じBSA溶液に分散させ、抗AFP IgG結合混晶フェライト被覆粒子（免疫測定用粒子）とした。

【0073】実施例21 粒子の浮遊性の検討

実施例20で作製した抗体結合粒子と従来の粒子（特開平3-115862号公報）を、それぞれ0.015%濃度で2%BSA溶液に分散させ、1mlをチューブに取り、表面磁場が3000ガウスの磁石に接触させ、1昼夜放置したものと、表面磁場がないところで1昼夜放置したものを作った。これらの粒子を2%BSA溶液で1回洗浄後、これを同じ2%BSA溶液に分散させ、分光光度計（日立製作所製）セルに入れ、室温で放置した。0~120分後に上清の吸光度を660nmの波長で測定した。その相対濁度を図7に示す。

【0074】実施例22 粒子の磁気分離速度の比較

実施例20で作製した抗体結合粒子と従来の粒子（特開平3-115862号公報）を、それぞれ0.015%濃度で2%BSA溶液に分散させ、1mlをチューブに取り、表面磁場が3000ガウスの磁石に接触させた。接触後0~2分後に上清を分離し、分光光度計（日立製作所製）セルに入れ、吸光度を660nmの波長で測定した。その相対濁度を図8に示す。

【0075】実施例23 抗AFP IgG結合混晶フェライト被覆粒子によるAFPアッセイ

実施例20で作製した抗AFPマウスIgG抗体を結合した免疫測定用粒子250μlに100ng/mlのAFPを含むサンプル10μlを混合し、37℃で5~30分間反応させた。このチューブを表面磁場が3000ガウスの磁石に接して、免疫測定用粒子を集磁させ、上清をデカンテーションにより排液した。この後、0.04%生理食塩水1mlを加え攪拌した。このチューブを前述の磁石により上清をデカンテーションにより排液した。この操作を3回繰り返した。

【0076】次に、抗AFP抗体Fab'を結合したアルカリホスファターゼコンジュゲート250μl（コンジュゲート濃度0.1μg/ml、0.1Mトリス-塩酸、2%BSA、1mM MgCl₂、0.1mM ZnCl₂、pH7.5）を混合し、37℃10分間、反応させた。このチューブを前述の磁石に接して免疫測定用粒子を集磁させ、前述方法により洗浄を行なった。

【0077】この粒子を含むチューブにAMPPD 200μg/mlを含む基質液（0.1M DEA-塩酸、1mM MgCl₂、0.1mM ZnCl₂、pH10.5）200μlを加え、37℃5分間反応させた。その後、ルミノメーター（アロカ社製）で測定した。図9に、時間依存性曲線を示した。また、5秒間積算値のS/N比を表4に示す。

【0078】

【表4】

表4 混晶フェライト被覆粒子と従来の粒子のS/N比

粒子	シグナル	ブランク	S/N
混晶フェライト被覆粒子	80.0	0.04	2000
従来の粒子	50.0	0.04	1250

【0079】実施例24

抗AFP IgG結合混晶フェライト被覆粒子の攪拌したままのAFPアッセイ実施例23で示したAFPアッセイを行なった。但し、1次免疫反応は、室温下、15～60分間、攪拌したまま又は攪拌せずに反応させた。2次免疫反応も室温下30分間攪拌しながら行なった。攪拌の有無による時間依存性曲線を図10及び図11にそれぞれ示した。

【0080】比較例4

特開平3-115862号の実施例2に記載された粒子を用いた以外は実施例23及び24と同じ操作を行った。結果を図9、10、11及び表4に示す。表4から、本発明の混晶フェライト粒子を用いる測定は、従来の粒子を用いる方法と比べるとS/N比で約1.6倍高感度であることがわかる。

【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1の方法により得られたフェライト被覆ポリスチレン粒子の顕微鏡写真の概略図である。

【図2】実施例2の方法により得られたMnフェライト被覆ポリスチレン粒子の顕微鏡写真の概略図である。

【図3】比較例1の方法により得られたフェライト被覆*

*ポリスチレン粒子の顕微鏡写真の概略図である。

【図4】本発明の方法でフェライト被覆粒子が得られるpHと酸化還元電位の範囲を示す図である。

【図5】本発明の混晶フェライト被覆粒子と従来の粒子の分散性を示す図である。

【図6】本発明の混晶フェライト被覆粒子と従来の粒子の集磁性を示す図である。

【図7】本発明の免疫測定用粒子と従来の粒子の分散性を示す図である。

【図8】本発明の免疫測定用粒子と従来の粒子の集磁性を示す図である。

【図9】本発明の免疫測定用粒子又は従来の粒子を用いて行った免疫測定における第1免疫反応のタイムコースを示す図である。

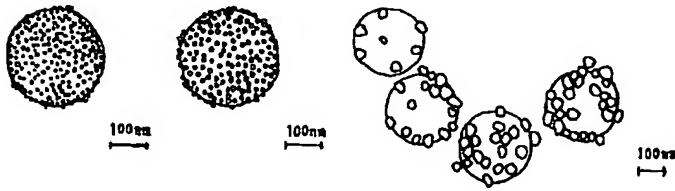
【図10】本発明の免疫測定用粒子又は従来の粒子を用いて攪拌せずに行った免疫測定における第1免疫反応のタイムコースを示す図である。

【図11】本発明の免疫測定用粒子又は従来の粒子を用いて攪拌下に行った免疫測定における第1免疫反応のタイムコースを示す図である。

【図1】

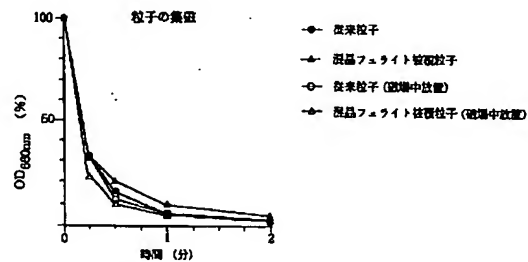
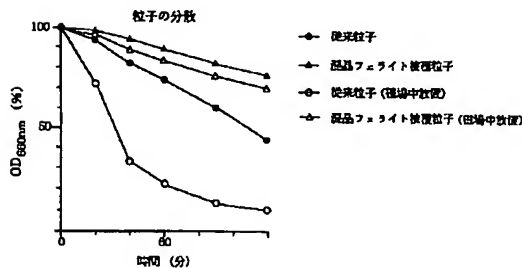
【図2】

【図3】

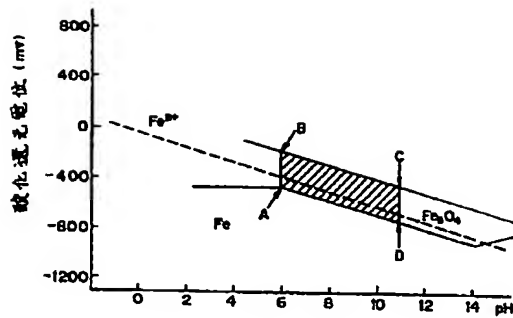


【図5】

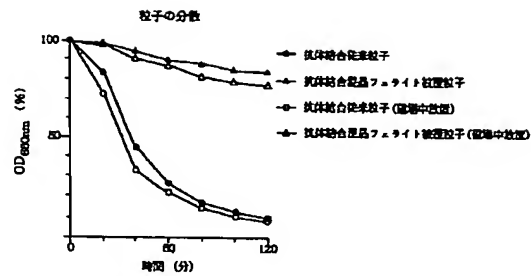
【図6】



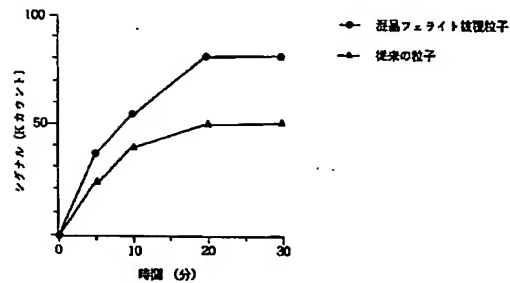
【図4】



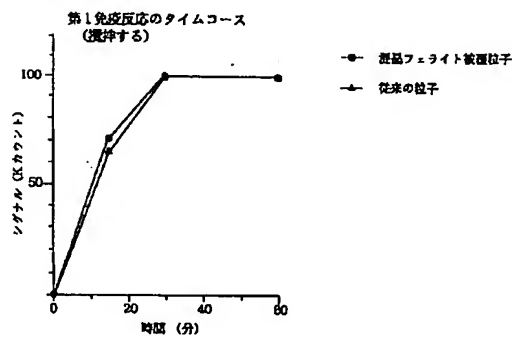
【図7】



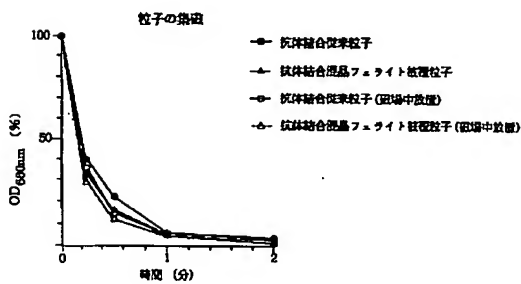
【図9】



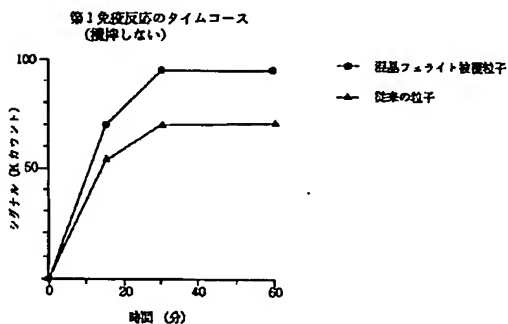
【図11】



【図8】



【図10】



【手続補正書】

【提出日】平成5年11月30日

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正内容】

【書類名】明細書

【発明の名称】フェライト被覆粒子及びその製法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 核粒子をフェライト粒子で被覆したフェライト被覆粒子であって、フェライト粒子の粒径が4～50nmであり、核粒子とフェライト粒子の粒径比が8/1～80/1であることを特徴とするフェライト被覆粒子。

【請求項2】 核粒子を水又は水溶液に分散させ、この液のpHを6～11に設定し、第一鉄イオン水溶液及び酸化剤水溶液を、pH-酸化還元電位図におけるpHと酸化還元電位の関係がA(6, -440mv)、B(6, -13

0mv)、C(11, -430mv)及びD(11, -740mv)の範囲内に維持されるように添加し、かつ酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を $0.1 \sim 15 \times 10^{-3}$ で行う、請求項1のフェライト被覆粒子の製造法。

【請求項3】 フェライト粒子が、式 $X^{1+}O \cdot Fe_2O_3$ (式中、XはFe、Mn、Ni、Zn、Co、Cu、Mg、Sn、Ca及びCdから選ばれる1種又は2種以上である)で示されるマグネタイト又は混晶フェライトで構成され、飽和磁化量が $1 \sim 60 \text{ emu/g}$ であり；核粒子が、樹脂、セラミックス、ガラス、粘土鉱物又はケイ酸ゲルの粒径 $30 \sim 800 \text{ nm}$ の粒子である；請求項2のフェライト被覆粒子の製造法。

【請求項4】 第一鉄イオン水溶液が、第一鉄の塩酸塩、硫酸塩又は酢酸塩の水溶液であり；酸化剤水溶液が、亜硝酸塩、硝酸塩、過酸化水素、有機過酸化物又は過塩素酸の水溶液であり；pHが $7.0 \sim 10$ に調整される；請求項2のフェライト被覆粒子の製造法。

【請求項5】 反応を $60 \sim 90^\circ\text{C}$ で行い、pHと酸化還元電位の関係図の特定範囲内の定点に制御し、供給速度比率を $5 \sim 10 \times 10^{-3}$ で行う、請求項2のフェライト被覆粒子の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、生体中での移動を制御できる超音波診断用造影剤等の臨床検査；フェライト粒子に薬剤を結合させて患者の疾患部に移動させるドラッグ・デリバリー・システム；あるいは記録材料（マグネットグラフィー）、磁性表示材料；その他生体物質の分離精製や抗原抗体反応などに利用されるフェライト粒子で被覆された磁性粒子に関する。

【0002】

【従来の技術】核粒子の表面にフェライト粒子を結合させた磁性粒子の製造法として、特開昭63-65085号公報には、フェライトメッキの原理を応用した方法が開示されているが、この方法ではフェライト粒子が成長しすぎて粒径が核粒子と同程度か $1/4$ 程度のものであったので、被覆率を高めるには約 300 nm 以上の粒径の核粒子を用いなければならなかった。そこで、本発明者等は先に、特開平3-237019号公報において、分散した核粒子に第一鉄イオン水溶液、酸化剤水溶液及びpH調整剤を添加し、pH-酸化還元電位におけるpHと酸化還元電位の関係を特定な範囲内に維持することにより、フェライト微粒子で被覆された磁性粒子を得た。しかしながら、このものでもフェライト粒子の粒径は $60 \sim 80 \text{ nm}$ (図3参照)であり、被覆が不均一であるため浮遊性、分散性が悪く、また核粒子表面の一部が露出しているため、例えば抗原抗体反応では非特異的吸着が起こるなどの欠点があった。

【0003】上記のような欠点を改善し、核粒子表面で

のフェライト粒子の被覆を完全にするには、フェライト粒子径をさらに小さく形成させることが必要であり、その方法について研究し、本発明に到達した。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明では、核粒子に結合するフェライト粒子の粒径は、第一鉄イオン濃度と酸化速度及び核粒子表面でのフェライト粒子の核の形成速度により、またフェライト粒子の核の形成速度は、第一鉄イオンの吸着速度と酸化速度で決定されることに着目し、いかに早くフェライト粒子の核を水中で形成させ、これを核粒子と衝突させることにより、つまり酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を一定範囲に調節することにより、フェライト粒子で均一に被覆されることを見出した。

【0005】即ち、本発明によれば、核粒子を水又は水溶液に分散させ、この液のpHを $6 \sim 11$ に設定し、第一鉄イオン水溶液及び酸化剤水溶液をpH-酸化還元電位図 (図4参照)におけるpHと酸化還元電位の関係がA(6, -440mv)、B(6, -130mv)、C(11, -430mv)及びD(11, -740mv)の範囲内に維持されるように添加し、かつ酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を $0.1 \sim 15 \times 10^{-3}$ で行うことにより、フェライト粒子の粒径が $4 \sim 50 \text{ nm}$ であり、核粒子とフェライト粒子の粒径比が $8/1 \sim 80/1$ であるフェライト粒子で被覆されたフェライト被覆粒子が得られる。

【0006】第一鉄イオン、必要に応じてその他の金属イオンとしては、第一鉄の塩酸塩、硫酸塩、酢酸塩等が用いられる。第一鉄イオン水溶液は、第一鉄イオンと共に他の遷移金属イオンを含んでいてもよい。第一鉄イオンのみを含む場合は、スピネルフェライト、すなわちマグネタイト(Fe_2O_3)粒子が形成され、他の金属イオン、例えばMn、Ni、Zn、Co、Cu、Mg、Sn、Ca又はCdを含む場合には、これら金属の酸化物の1種又は2種以上を含む式 $X^{1+}O \cdot Fe_2O_3$ (式中Xは、上記他の金属を表す)で示される混晶フェライト粒子が形成される。フェライト粒子の粒径は $4 \sim 50 \text{ nm}$ であり、核粒子とフェライト粒子の粒径比は $8/1 \sim 80/1$ であり、核粒子よりも大巾に小さいフェライト粒子で均一に被覆されたものとなる。なお、他の金属酸化物と Fe_2O_3 の比率は上記の式に該当する場合だけでなく $M_x Fe_{(3-x)}O_4$ (ここに $0 < X < 3$)であっても良い。

【0007】酸化剤としては、亜硝酸塩、硝酸塩、過酸化水素、有機過酸化物、過塩素酸等が用いられる、好ましくは亜硝酸塩又は過酸化水素が用いられる。

【0008】また、pHの調整には、pH緩衝剤、水酸化ナトリウム又はアンモニア水が用いられ、反応液をpH $6 \sim 11$ 、好ましくは $6.5 \sim 10$ に調整される。pHの安定化のため、酢酸ナトリウムのような有機酸塩の緩衝剤を

添加することは好ましい。

【0009】核粒子としては、樹脂、セラミックス、ガラス、粘土鉱物又はケイ酸ゲルの粒径30～800nmの粒子が用いられ、特に従来この目的のために用いられている核粒子よりも小さい30～300nmのものを用いることができる。形状は球形でも変形したものでも適宜用いられる。核粒子はそのまま用いてもよいが、例えばプラズマ処理、アルカリ処理、酸処理又は物理的な処理を行ってもよい。これらの処理を行った場合は水溶液に対するぬれ性が改善され、フェライト粒子によるより均一な被覆ができる。

【0010】核粒子をフェライト粒子で被覆する反応は、核粒子を分散させた水又は水溶液中で行われる。水溶液にはpH調整剤を添加し、pHを6～11に設定する。水溶液は好ましくは脱酸素水溶液が用いられる。この際必要により界面活性剤を添加して、核粒子の水への馴染みを向上させてもよいが、界面活性剤の添加は必須ではない。

【0011】この後、第一鉄イオン水溶液及び酸化剤水溶液を上記分散液に添加するが、この添加工程中、分散液のpHと酸化還元電位は図4におけるA、B、C及びDの点で囲まれた範囲内に制御して維持する。この際酸化速度が大きいくほど、フェライト粒子の核は多く形成されるが、第一鉄イオン濃度がコントロールされているのでフェライト粒子の粒径は小さく均一な粒径となる。そのため、酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を0.1～15×10⁻¹で行い、酸化速度を早くし、Fe、O₂が早く過飽和の状態になるようにする。

【0012】反応は水溶液の沸点以下の温度で行うことができるが、好ましくは60～90℃の範囲で行われる。また、反応は好ましくは脱酸素下で行われる。酸素が多量に存在する条件下では不必要な酸化反応が進行するので、例えば窒素雰囲気下で反応させることが好ましい。また第一鉄イオン水溶液及び酸化剤水溶液からも酸素を除き、脱酸素水溶液とする。

【0013】得られたフェライト微粒子で被覆された粒子は、濾過することにより分離し、目的物を得る。目的に応じて分離後、乾燥してもよい。

【0014】

【発明の効果】

(1) 本発明の方法によれば、従来法のものより、微粒子のフェライト粒子で核粒子の表面が均一に被覆されているため、比表面積を大きくすることができ、分散性及び浮遊性が向上する。

(2) フェライト粒子により被覆率がよく、均一に被覆されているため、抗原抗体反応に用いても精度が向上する。

(3) 核粒子をより小さくすることができるので、小粒径のマイクロカプセルとしてドラッグ・デリバリー・システムへの応用が有利になる。

(4) 比重のコントロール及び/又は磁化量のコントロールが可能である。

(5) フェライトの回収効率が向上する。

【0015】

【実施例】

実施例1

反応容器にイオン交換水0.9Lを仕込み、粒径が300nmのポリスチレン粒子(日本ペイント(株)製ニッペマイクロジェルE-3101)10gを予めイオン交換水に分散させたもの100gを前記反応容器に投入した。この分散液を0.1N NaOHでpH8.0に調整し、70℃に加熱保持した。このものに、予めFeCl₂・4H₂Oをイオン交換水に溶解して調製した40wt%第一鉄イオン水溶液を、60ml/分の供給速度で供給し、同時にイオン交換水に溶解した15wt%亜硝酸ナトリウム水溶液を、0.3ml/分の供給速度で供給した。この間pHを8.0で一定に維持した。またこの溶液の酸化還元電位を-550mVで一定に維持するように亜硝酸ナトリウム水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を5×10⁻¹に調節した。得られたフェライト被覆粒子を濾過により分離、水洗を繰り返し行い、フェライト被覆ポリスチレン粒子を得た。このものの顕微鏡写真(25,000倍)の概略図を図1に示す。フェライト粒子の粒径は20～10nmであり、被覆率は、核粒子上の被覆粒子数をカウントし、次の基準で評価し、優であった。

【0016】

悪：<10、可：≤50、良：≤99、優：≥100

【0017】実施例2

実施例1における第一鉄イオン水溶液の代りに、予めFeCl₂・4H₂O26.1gとMnCl₂・4H₂O13.0gをイオン交換水60.9gに溶解した40%wt%水溶液を用い、酸化剤水溶液として20wt%過酸化水素水溶液を用いた以外は、実施例1と同様に行って、Mnフェライト被覆ポリスチレン粒子を得た。このものの顕微鏡写真の概略図は図2に示す。Mnフェライト粒子の粒径は20～10nmであり、被覆率は優であった。

【0018】比較例1

実施例1における亜硝酸ナトリウム水溶液の供給速度を1ml/分で行った以外は、実施例1と同様に行って、フェライト被覆ポリスチレン微粒子を得た。このものの顕微鏡写真の概略図は図3に示す。マグネタイト粒子の粒径は80～70nmであり、被覆率は可であった。

【0019】実施例3～5及び比較例2、3

実施例1における酸化剤水溶液と第一鉄イオン水溶液の供給速度比率を表1のとおり行った以外は、実施例1と同様に行って、フェライト被覆ポリスチレン粒子を得た。このもののフェライト粒子径及び被覆率を表1に示す。

【0020】

【表1】

*
*
表1

	実 施 例			比 較 例	
	3	4	5	2	3
酸化剤/第一鉄イオン 供給速度比率 ($\times 10^{-3}$)	0.1	5	15	0.05	20
フェライト粒子 粒 径 (nm)	10-5	40-20	50-30	-	80-70
被覆率	優	優	優	制 御 できず	可

【0021】実施例6~9

核粒子として、ポリスチレン (ST)、メチルメタクリレート (MMA) 及びn-ブチルアクリレート (nBA) の所定の粒径の粒子を用い、反応時のpH及び酸化還元電位を表1に示す条件で行った以外は、実施例1と同様に行って、フェライト被覆粒子を得た。

※【0022】このもののフェライト粒子径及び被覆率を表2に示す。

【0023】

【表2】

※

表2

	実 施 例			
	6	7	8	9
核粒子				
材料	*1 ST	*2 MMA	*3 ST	*4 nBA
粒径 (nm)	100	800	300	60
反応条件				
pH	6.5	7.0	9.0	10.0
酸化還元電位 (mv)	-200	-450	-600	-300
フェライト粒子				
粒径 (nm)	15-10	50-30	40-20	10-5
被覆率	優	優	優	優

- *1 ニッペマイクロジェル E-1001(日本ペイント (株) 製)
 *2 ニッペマイクロジェル E-1101(//)
 *3 ニッペマイクロジェル E-3101(//)
 *4 ニッペマイクロジェル E-5003(//)

【0024】実施例10~15

【表3】

核粒子として、表3に示す熔融ソーダ法で得られたガラス粒子、イオン交換法で得られたケイ酸ゲル粒子及び合成スメクタイトである粘土鉱物粒子の所定の粒径のものを、形成されるフェライト粒子がマグネタイト又はMnフェライトである以外は、実施例1と同様に行って、フェライト被覆粒子を得た、このもののフェライト粒子径及び被覆率を表3に示す。

【0025】

表3

		実 施 例					
		10	11	12	13	14	15
核粒子材料 粒径 (nm)	ガラス	800	ガラス	ケイ酸ゲル 500	ケイ酸ゲル 500	粘土鉱物 300	粘土鉱物 300
	フェライト粒子材料 粒径 (nm)	マグネタイト 50-30 良	Mn-フェライト 50-30 良	マグネタイト 40-20 優	Mn-フェライト 40-20 優	マグネタイト 40-20 優	Mn-フェライト 40-20 優
被覆率		良	良	優	優	優	優

【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1の方法により得られたフェライト被覆ポリスチレン粒子の顕微鏡写真の概略図である。

【図2】実施例2の方法により得られたMnフェライト被覆ポリスチレン粒子の顕微鏡写真の概略図である。

【図3】比較例1の方法により得られたフェライト被覆ポリスチレン粒子の顕微鏡写真の概略図である。

【図4】本発明の方法でフェライト被覆粒子が得られるpHと酸化還元電位の範囲を示す図である。

【手続補正3】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図5

【補正方法】削除

【手続補正4】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図6

【補正方法】削除

【手続補正5】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図7

【補正方法】削除

【手続補正6】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図8

【補正方法】削除

【手続補正7】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図9

【補正方法】削除

【手続補正8】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図10

【補正方法】削除

【手続補正9】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図11

【補正方法】削除

【手続補正10】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図11

【補正方法】削除

フロントページの続き

(72)発明者 芦原 義弘
東京都新宿区西新宿2丁目7番1号 富士
レビオ株式会社内
(72)発明者 吉岡 克昭
東京都品川区南品川4丁目1番15号 日本
ペイント株式会社東京事業所内

(72)発明者 岡田 政久
東京都新宿区西新宿2丁目7番1号 富士
レビオ株式会社内
(72)発明者 阿南 真
東京都品川区南品川4丁目1番15号 日本
ペイント株式会社東京事業所内